

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi dan Klasifikasi Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

1. Taksonomi dan Morfologi

Ikan patin (*Pangasius* sp.) adalah salah satu ikan asli perairan Indonesia yang telah berhasil didomestikasi (Kordi, 2005). Ikan patin dulunya adalah nama lokal untuk ikan asli Indonesia yang memiliki nama ilmiah *Pangasius pangasius*. Namun, saat ini nama patin secara umum dipakai untuk memberi nama sebagian besar ikan keluarga Pangasidae. Untuk *Pangasius sutchi* diberi nama patin siam dan untuk *Pangasius djambal* di beri nama patin djambal. Menurut Bleeker (1846), kedudukan taksonomi ikan patin djambal adalah sebagai berikut:

Ordo	: Ostariophysi
Sub-ordo	: Siluroidea
Famili	: Pangasidae
Genus	: <i>Pangasius</i>
Spesies	: <i>Pangasius djambal</i>

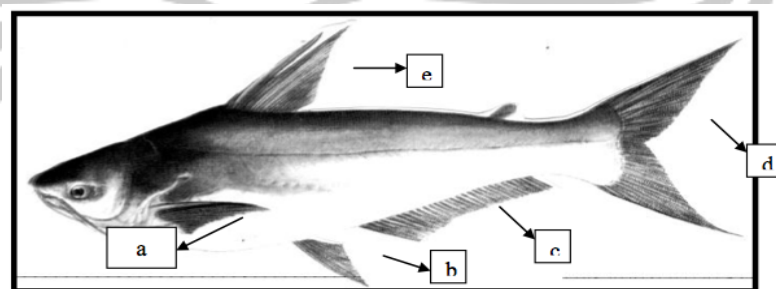
Menurut Hernowo (2001), kedudukan taksonomi ikan patin siam adalah sebagai berikut:

Ordo	: Ostariophysi
Sub-ordo	: Siluroidea
Famili	: Pangasidae
Genus	: <i>Pangasius</i>
Spesies	: <i>Pangasius hypophthalmus</i>

Ikan patin mempunyai bentuk tubuh memanjang, berwarna putih

perak dengan punggung berwarna kebiruan. Ikan patin tidak memiliki sisik, kepala ikan patin relatif kecil dengan mulut terletak diujung kepala agak ke bawah. Hal ini merupakan ciri khas golongan *catfish*. Panjang tubuhnya dapat mencapai 120 cm. Sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis pendek yang berfungsi sebagai peraba. Sirip punggung memiliki sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi patil yang besar dan bergerigi di belakangnya (Gambar 1), sedangkan jari-jari lunak pada sirip punggungnya terdapat 6 – 7 buah (Kordi, 2005).

Pada permukaan punggung terdapat sirip lemak yang ukurannya sangat kecil dan sirip ekornya membentuk cagak dengan bentuk simetris. Sirip duburnya agak panjang dan mempunyai 30 – 33 jari-jari lunak, sirip perutnya terdapat 6 jari-jari lunak. Sedangkan sirip dada terdapat sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi senjata yang dikenal sebagai patil dan memiliki 12 – 13 jari-jari lunak (Susanto dan Amri, 1996).



Gambar 1. Morfologi Ikan Patin terdiri dari : (a) Sirip dada (b), Sirip perut (c), Sirip dubur, (d) Sirip ekor, (e) Sirip punggung.

Gambar 1. Morfologi ikan patin (*Pangasius* sp.)
Susanto dan Amri (1996).

2. Habitat dan Penyebaran

Habitat ikan patin adalah di tepi sungai – sungai besar dan di muara – muara sungai serta danau. Dilihat dari bentuk mulut ikan patin yang letaknya sedikit agak ke bawah, maka ikan patin termasuk ikan yang hidup di dasar perairan. Ikan patin sangat terkenal dan digemari oleh masyarakat karena daging ikan patin sangat gurih dan lezat untuk dikonsumsi (Susanto dan Amri, 1996).

Patin dikenal sebagai hewan yang bersifat nokturnal, yakni melakukan aktivitas atau yang aktif pada malam hari. Ikan ini suka bersembunyi di liang – liang tepi sungai. Benih patin di alam biasanya bergerombol dan sesekali muncul di permukaan air untuk menghirup oksigen langsung dari udara pada menjelang fajar. Untuk budidaya ikan patin, media atau lingkungan yang dibutuhkan tidaklah rumit, karena patin termasuk golongan ikan yang mampu bertahan pada lingkungan perairan yang jelek. Walaupun patin dikenal ikan yang mampu hidup pada lingkungan perairan yang jelek, namun ikan ini lebih menyukai perairan dengan kondisi perairan baik (Kordi, 2005).

Kelangsungan hidup ikan sangat dipengaruhi oleh kualitas air. Karena air sebagai media tumbuh sehingga harus memenuhi syarat dan harus diperhatikan kualitas airnya, seperti: suhu, kandungan oksigen terlarut (DO) dan keasaman (pH). Air yang digunakan dapat membuat ikan melangsungkan hidupnya (Effendi, 2003). Menurut Kordi (2005), Air yang digunakan untuk pemeliharaan ikan patin harus memenuhi kebutuhan optimal ikan. Air yang digunakan kualitasnya harus baik. Ada beberapa

faktor yang dijadikan parameter dalam menilai kualitas suatu perairan, sebagai berikut:

- a. Oksigen (O_2) terlarut antara 3 – 7 ppm, optimal 5 – 6 ppm.
- b. Suhu 25–33°C.
- c. pH air 6,5–9,0; optimal 7–8,5.
- d. Karbondioksida (CO_2) tidak lebih dari 10 ppm
- e. Amonia (NH_3) dan asam belerang (H_2S) tidak lebih dari 0,1 ppm.
- f. Kesadahan 3 – 8 dGH (*degress of German total Hardness*)

Benih patin di alam biasanya bergerombol dan sesekali muncul di permukaan air untuk menghirup oksigen langsung dari udara pada saat menjelang fajar. Kebiasaan patin ini di manfaatkan oleh nelayan dan petani ikan dalam melakukan penangkapan benih. Kemunculan benih patin dalam jumlah besar biasanya menjelang akhir musim hujan atau sekitar bulan Maret sampai Mei. Penangkapan benih patin biasanya menggunakan seser atau jala (Kordi, 2005).

3. Kandungan Gizi

Menurut Rahmawati (2013), ikan patin merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang cukup dikenal di Indonesia, serta memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Ikan patin banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan pempek, nugget, dan produk olahan perikanan lainnya. Selain rasa dagingnya lezat, ikan patin memiliki beberapa kelebihan misal ukuran per individunya besar.

Ikan patin memiliki protein yang cukup tinggi yaitu 14,53%. Apabila dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya protein ikan patin lebih rendah seperti ikan mas (18,3%), ikan gabus (25,2) dan ikan bawal (18,2%) sedangkan ikan patin memiliki protein lebih tinggi daripada ikan lais (11,9%) dan ikan seluang (10%) (Depkes, 2017). Ikan patin juga memiliki kadar Omega-3 berkisar 1,16-12,44% (W/W) dan Omega-6 berkisar 12,278-15,961% (W/W) (Panagan dkk., 2012). Daging ikan patin memiliki kandungan kalori dan protein yang cukup tinggi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia ikan patin per 100 g daging ikan

Komposisi Kimia	Presentase (%)
Air	82,22
Protein	14,53
Lemak	5,75
Abu	0,74

Sumber :Subagja (2009) dan Panagan dkk., (2012)

4. Kemunduran Mutu Ikan

Proses pembusukan ikan dapat disebabkan oleh aktivitas enzim yang terdapat dalam tubuh ikan sendiri, aktivitas mikroorganisme, atau proses oksidasi pada lemak tubuh ikan oleh oksigen dari udara (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Aktivitas mikroorganisme terdapat dalam seluruh lapisan daging ikan, terutama bagian insang, isi perut, dan kulit (lendir). Aktivitas mikroorganisme tersebut dibantu enzim. Beberapa enzim pada mulanya

berfungsi sebagai katalisator proses – proses metabolik berubah fungsi menjadi penghancur jaringan tubuh ikan (Djarjah, 1995).

Salah satu jenis enzim yang berperan penting dalam proses kemunduran mutu ikan adalah enzim-enzim pengurai protein (enzim proteolitik) yang menguraikan protein menjadi pepton, polipeptida, dan asam-asam amino (Kreuzer, 1965). Diantara enzim proteolitik tersebut yaitu enzim katepsin. Katepsin merupakan enzim proteolitik yang terdapat pada jaringan tubuh ikan. Enzim ini sangat berperan dalam proses pelunakan tekstur daging ikan akibat degradasi protein miofibril sehingga turut mempercepat proses kemunduran mutu ikan (Jiang, 2000). Pada penelitian Fikri dkk., (2014), enzim katepsin berhasil diekstraksi dari daging ikan patin diperoleh ekstrak kasar enzim tersebut memiliki aktivitas sebesar 0,278 U/mL dan aktivitas spesifik 0,907 U/mg.

B. Diskripsi dan Jenis- Jenis Fermentasi

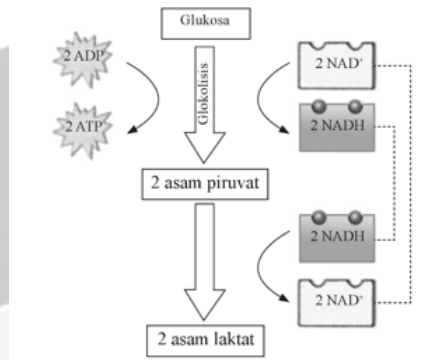
Menurut Abdurahman dkk., (2006), fermentasi adalah proses metabolisme yang menghasilkan energi dari gula dan molekul organik lain serta tidak memerlukan oksigen atau sistem transfer elektron. Fermentasi menggunakan molekul organik sebagai akhir akseptor elektronnya. Setelah glukosa diubah menjadi asam piruvat melalui proses glikolisis, pada beberapa makhluk hidup seperti bakteri, asam piruvat dapat diubah menjadi produk fermentasi.

Proses glikolisis menghasilkan ATP dalam jumlah kecil, namun cukup bagi suplai energi mikroorganisme. Selain proses ATP, proses

glikolisis menghasilkan NADH atau NADPH₂. Proses fermentasi harus mengubah NADH atau NADPH₂ menjadi NAD⁺ atau NADP⁺ kembali agar proses glikolisis pada fermentasi terus terjadi (Abdurahman dkk., 2006).

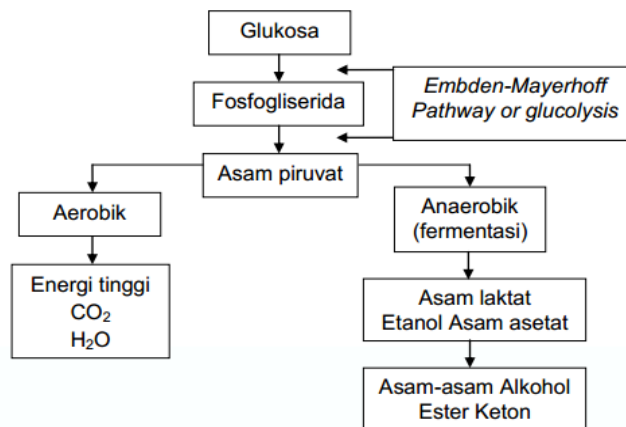
Pengolahan pangan secara fermentasi memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan pengolahan pangan secara fermentasi yaitu proses pengolahannya sederhana, mudah dan tidak mahal, produk yang dihasilkan mengandung nilai gizi yang lebih tinggi, serta memiliki cita rasa yang khas. Sementara itu, produk fermentasi juga memiliki kekurangan, diantaranya yaitu mutu yang rendah dan tidak stabil. Rendahnya mutu produk fermentasi terjadi karena proses fermentasinya tradisional dan berlangsung secara spontan sehingga mutu produk akhir yang dihasilkan tidak seragam dan kurang baik akibat adanya bakteri pembusuk dan bakteri patogen yang tumbuh cepat mendahului bakteri asam laktat (Heruwati, 2002).

Fermentasi asam laktat dimulai dengan tahap glikolisis. Fermentasi asam laktat dilakukan oleh sel otot dan beberapa sel lainnya, serta beberapa bakteri asam laktat. Pada otot, proses ini dapat menyediakan energi yang dibutuhkan secara cepat. Glukosa akan dipecah menjadi 2 molekul asam piruvat melalui glikolisis, membentuk 2 ATP dan 2 NADH. NADH diubah kembali menjadi NAD⁺ saat pembentukan asam laktat dari asam piruvat (Abdurahman dkk., 2006). Bagan fermentasi asam laktat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan Fermentasi Asam Laktat
(Abdurahman dkk., 2006).

Proses fermentasi terjadi dalam keadaan anaerob dimana mikroba pada bahan pangan akan mengubah glukosa menjadi air, CO_2 dan energi (ATP). Proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Proses Fermentasi
(Muchtadi dan Sugiyono, 2010)

Menurut Suprihatin (2010), fermentasi terdiri dari dua jenis berdasarkan sumber mikroorganismenya, yaitu:

1. Fermentasi spontan, merupakan fermentasi bahan pangan yang tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi.
2. Fermentasi tidak spontan adalah fermentasi bahan pangan yang ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi. Mikroorganisme tersebut akan mengubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan, contohnya pada pembuatan tempe.

Fermentasi juga dapat dibagi menjadi dua bagian berdasarkan bentuk produk yang dihasilkan yaitu fermentasi dengan produk akhir berbeda dari bahan baku (seperti: silase ikan, terasi ikan dan kecap ikan) dan fermentasi dengan produk akhir serupa dengan bahan baku seperti bekasam dan ikan peda (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Sementara itu, Adawyah (2011) menerangkan bahwa proses fermentasi ikan dapat dibedakan atas empat golongan yaitu:

1. Fermentasi menggunakan kadar garam tinggi, misalnya pembuatan peda, kecap ikan, terasi, dan bekasam.
2. Fermentasi menggunakan asam-asam organik, misalnya dalam pembuatan silase ikan menggunakan asam propionat dan asam format.
3. Fermentasi menggunakan asam-asam mineral, misalnya dalam pembuatan silase ikan menggunakan asam-asam kuat.
4. Fermentasi menggunakan bakteri asam laktat, misalnya dalam pembuatan bekasam dan chaoteri.

Menurut Nurani dkk., (2013), ada beberapa faktor yang dapat memengaruhi keberhasilan dari proses fermentasi, yaitu:

1. Keasaman (pH)

Tingkat pH yang baik untuk pertumbuhan bakteri dalam proses fermentasi adalah 3,5 – 5,5. Makanan yang mengandung asam biasanya tahan lama, tetapi jika oksigen cukup jumlahnya dan kapang dapat tumbuh serta fermentasi berlangsung terus, maka daya tahan awet dari asam tersebut akan hilang. Menurut Khalid (2011), BAL mempunyai pH optimum 5,5 – 5,8

2. Mikroba

Fermentasi dilakukan dengan menggunakan kultur murni atau starter. Banyaknya mikroba (starter/inokulum) yang ditambahkan berkisar antara 3–10 % dari volume medium fermentasi. Penggunaan inokulum yang bervariasi ini dapat menyebabkan proses fermentasi dan mutu produk akan berubah-ubah. Inokulum adalah kultur mikroba yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi pada saat kultur mikroba tersebut berada pada fase pertumbuhan eksponensial.

3. Suhu

Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikroba yang dominan selama fermentasi. Setiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan maksimal, minimal dan optimal. Suhu pertumbuhan optimal adalah suhu yang memberikan pertumbuhan terbaik dan perbanyakkan sel tercepat. Menurut Khalid (2011), Suhu optimal bagi pertumbuhan BAL adalah 10° - 45° C.

4. Alkohol

Mikroorganisme yang terkandung dalam ragi tidak tahan terhadap alkohol dalam kepekatan (kadar) tertentu, kebanyakan mikroba tidak tahan pada konsentrasi alkohol 12 – 15 %.

5. Lama Fermentasi

Bila suatu sel mikroorganisme diinokulasikan pada medium nutrisi agar, pertumbuhan yang terlihat mula-mula adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Ketika ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar sel normal, sel tersebut membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian tumbuh dan membelah diri menghasilkan empat sel. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk (Buckle, 2009).

6. Oksigen

Oksigen selama proses fermentasi harus diatur sebaik mungkin untuk memperbanyak atau menghambat pertumbuhan mikroba tertentu, ragi yang menghasilkan alkohol dari gula lebih baik dalam kondisi anaerobik. Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau membentuk sel-sel baru dan untuk proses fermentasi.

7. Substrat dan Nutrien

Mikroorganisme memerlukan substrat dan nutrisi yang berfungsi untuk menyediakan :

1. Energi, biasanya diperoleh dari substansi yang mengandung karbon, yang salah satu sumbernya adalah gula.
2. Nitrogen, sebagian besar mikroba yang digunakan dalam fermentasi berupa senyawa organik maupun anorganik sebagai sumber nitrogen.
3. Mineral dan vitamin

C. Wadi Sebagai Pangan Alternatif Masyarakat Lokal Kalimantan

1. Deskripsi Wadi

Makanan hasil fermentasi sudah dikenal sejak lama dan terdapat di berbagai negara dengan ciri khas masing-masing. Makanan fermentasi tersebut diolah berdasarkan resep turun-temurun (Soetrisno dan Apriyantono, 2005). Salah satu pengawetan tradisional ikan yang banyak dilakukan masyarakat adalah fermentasi (Rahayu, 2002).

Beberapa produk awetan ikan fermentasi tersebut diantaranya adalah peda dan terasi dari daerah Yogyakarta, Jawa, dan Lombok, dan pindang dari daerah Jawa (Rahayu, 2002). Kecap ikan dan bekasam dari daerah Sumatera Selatan, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Salah satu hasil pengolahan secara tradisional yang sangat disukai masyarakat Kalimantan adalah wadi, namun produk ini rasanya terlalu asin walaupun daya simpannya sampai 2 bulan (Restu, 2014).

Wadi adalah produk fermentasi ikan tradisional yang berbentuk ikan utuh semi basah, berwarna agak hitam (mendekati warna ikan segar), bertekstur liat dengan aroma khas ikan fermentasi serta mempunyai rasa yang asin (Khairina, 1998 dan Khairina, dkk, 1999). Produk wadi disukai masyarakat Kalimantan Selatan karena citarasanya yang spesifik (Khairina, 1998). Kespesifikan tersebut muncul akibat terjadinya perombakan senyawa kompleks (protein dan lemak) menjadi senyawa yang lebih sederhana (asam amino dan asam lemak) selama proses fermentasi berlangsung (Khairina dan Khotimah, 2006).

2. Proses Pengolahan Wadi dan Syarat Mutu

Wadi dibuat secara tradisional melalui proses fermentasi menggunakan ikan segar. Umumnya jenis ikan yang digunakan adalah ikan air tawar. Bahan tambahan yang digunakan pada pembuatan wadi adalah garam dan beras yang digoreng tanpa minyak (disangrai) lalu ditumbuk kasar yang dinamakan lamu atau samu (Carolina, 1996). Lamu mengandung sumber pati sebagai sumber karbohidrat (Moeljanto, 1992). Wadi dibuat dengan cara mencampur ikan dengan garam setelah dibiarkan selama ± 24 jam air lelehan yang keluar dari daging ikan dibuang, kemudian ditambahkan samu (beras sangrai yang ditumbuk halus), kemudian disimpan selama 7 – 10 hari untuk proses fermentasi, setelah itu wadi siap untuk dimasak (Restu, 2014).

Proses pembuatan wadi dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi 5%, 7,5% dan 10%. Menurut Afrianto dan Liviawaty (1989),

menyarankan penggaraman dengan cara menaburkan garam pada permukaan ikan. Garam yang digunakan sebaiknya tidak lebih dari 20% dari bobot ikan. Jika lebih, akan dihasilkan produk fermentasi yang sangat asin.

Pada pembuatan wadi ikan patin masih diolah secara tradisional dan belum memiliki syarat mutu yang ditetapkan secara khusus. Oleh karena itu digunakan syarat mutu pemindangan ikan. Menurut Afrianto dan Liviawaty (1989), pemindangan adalah proses pengawetan ikan dengan cara mengukus ikan dalam lingkungan bergaram dengan tujuan untuk menghambat aktivitas enzim. Syarat mutu ikan pindang menurut SNI 01- 2717-1992 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat Mutu Ikan Pindang

No.	Jenis Uji	Persyaratan Mutu	
		Pindang Air Garam	Pindang Garam
a.	Organoleptik	7	6
	Nilai Minimum		
	Kapang	Negatif	Negatif
b.	Mikrobiologi	1×10^5	1×10^5
	TPC per gram maks		
	<i>E.coli</i> MPN per gram maks	3 CFU	3 CFU
	<i>Salmonella</i> *	Negatif	Negatif
	<i>Vibrio cholera</i> *	Negatif	Negatif
	<i>Staphylococcus aureus</i> *	1×10^3	1×10^3
c.	Kimia	70	70
	Air, % bobot/bobot maks		
	Garam, % bobot/bobot maks	10	10
Keterangan: * jika dibutuhkan			

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (1992)

3. Garam

Garam (NaCl) adalah salah satu bahan pengawet yang banyak digunakan untuk mengawetkan hasil perikanan (Hadiwiyoto, 1993). Garam bermanfaat untuk membatasi pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan memberikan cita rasa pada bekasam yang dihasilkan. Mekanisme pengawetan oleh garam berlangsung melalui penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari tubuh ikan akibat perbedaan konsentrasi (Adawyah, 2011).

Cairan yang ke luar tersebut akan melarutkan kristal garam dan partikel garam akan masuk ke dalam tubuh ikan. Partikel garam tersebut akan menyerap cairan tubuh ikan dan cairan sel bakteri sehingga akan mengganggu proses metabolisme bakteri. Hal tersebut dapat menyebabkan bakteri mengalami kekeringan dan bahkan mengalami kematian (Adawyah, 2011). Aktivitas antibakteri pada garam disebabkan oleh kemampuannya untuk menurunkan ketersediaan air bebas (Irianto, 2013).

Proses fermentasi sebaiknya menggunakan garam yang bermutu baik (garam dengan kandungan NaCl >90%). Secara umum garam terdiri atas 39,39% Na dan 60,69% Cl, bentuk kristal seperti kubus dan berwarna putih (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Garam yang baik adalah yang mengandung sedikit unsur Mg (Magnesium) dan Ca (kalsium). Unsur tersebut dapat memperlambat penetrasi garam ke dalam tubuh ikan sehingga terjadi proses pembusukan dan menyebabkan masalah dalam penyimpanan (Adawyah, 2011).

Penggunaan garam sangat menguntungkan, sebab penetrasinya ke dalam tubuh ikan dapat berlangsung dengan cepat dan merata. Jumlah garam yang digunakan sekitar 20% agar bekasam yang dihasilkan tidak terlalu asin. Semakin tinggi konsentrasi garam, semakin tinggi daya awetnya tetapi ikan menjadi terlalu asin sehingga kurang disukai (Adawyah, 2011). Penggunaan konsentrasi garam yang sesuai akan mendorong terbentuknya bakteri asam laktat dan menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan (Astuti, 2006).

4. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa yang terbentuk dari molekul karbon, hidrogen dan oksigen (Poedjiadi dan Supriyanti, 2007). Sumber karbohidrat untuk fermentasi terbatas dalam tubuh ikan sehingga diperlukan tambahan karbohidrat dari luar (Murtini dkk., 1997). Karbohidrat dalam tubuh ikan kebanyakan berbentuk polisakarida yaitu glikogen (Hadiwiyoto, 1993). Pada penelitian ini sumber karbohidrat yaitu beras.

Beras yang digunakan sebagai sumber karbohidrat mikrobial karena teksturnya yang tidak lengket. Beras merupakan bahan pangan pokok bagi sebagian besar masyarakat Indonesia. Sebagaimana bulir sereal lain, bagian terbesar beras didominasi oleh pati (sekitar 80-85%). Beras juga mengandung protein, vitamin (terutama pada bagian aleuron), mineral, dan air. Pati beras tersusun dari dua polimer karbohidrat, yaitu amilosa (pati

dengan struktur tidak bercabang) dan amilopektin (pati dengan struktur bercabang dan cenderung bersifat lengket) (Winarno, 1992).

Perbandingan komposisi kedua golongan pati ini sangat menentukan warna (transparan atau tidak) dan tekstur nasi (lengket, lunak, keras, atau pera). Ketan hampir sepenuhnya didominasi oleh amilopektin sehingga sangat lekat, sementara beras pera memiliki kandungan amilosa melebihi 20% yang membuat butiran nasinya terpecah-pecah (tidak berlekatan) dan keras (Winarno, 1992). Kandungan gizi dalam 100 gram beras dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan gizi dalam 100 gram beras

No	Jenis Beras	Kandungan Gizi				
		Air (%)	Kabohidrat (%)	Lemak (%)	Protein (%)	Lain-lain (%)
1	Pecah kulit	13	76,2	1,9	7,4	1,5
2	Beras setengah giling	12	78,3	1,1	7,6	1
3	Beras giling	13	78,9	0,7	6,8	0,6
4	Beras merah, tumbuk	13	7,6	0,9	7,9	0,6
5	Beras ketan putih	12	79,4	0,7	6,7	1,2

Sumber : Poedjiadi (1994)

D. Bakteri Asam Laktat

Pangan yang difermentasi memberikan satu atau lebih manfaat bagi kesehatan tubuh, diantaranya yaitu bakteri asam laktat (BAL) yang bermanfaat untuk menyeimbangkan mikroflora di usus (Howlett,

2008). Bakteri asam laktat (BAL) didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, sebagian besar bersifat katalase negatif, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat (Pato, 2003; Chandra, 2006). Morfologi bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 4.



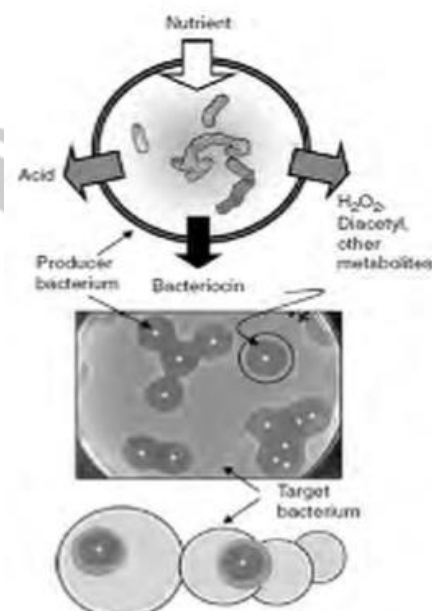
Gambar 4. Bakteri Asam Laktat (BAL)
(Carr dkk., 2002).

Semua bakteri asam laktat memerlukan karbohidrat yang dapat difermentasi sebagai sumber energi. Secara konvensional organisme ini dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama yang pada dasarnya hanya memproduksi asam laktat ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) dari karbohidrat yang dapat difermentasi, dikenal sebagai bakteri asam laktat homofermentatif. Kelompok yang kedua memproduksi asam asetat (CH_3COOH), etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), karbondioksida, dan asam laktat dari karbohidrat yang dapat difermentasi disebut bakteri asam laktat heterofermentatif (Volk dan Wheeler, 1988).

BAL juga menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2) karena adanya oksigen sehingga terjadi reaksi *flavoprotein oksidasi* atau *nicotinamida*

adenin hidroxy dinucleotida (NADH) peroksidase. H_2O_2 berasal dari *oxidation sulfhydryl* disebabkan karena denaturasi dari sejumlah enzim berasal dari *peroksidase membrane lipids* sehingga meningkatkan permeabilitas membran (Kong dan Davidson, 1980).

Karbondioksida (CO_2) merupakan hasil dari produk fermentasi BAL secara heterofermentatif. Mekanismenya adalah CO_2 bekerja dalam suasana anaerob, selanjutnya menghambat kerja enzim *dekarboksilase* dalam membran lipid sehingga tidak mempunyai fungsi sebagai permeabilitas (Eklund, 1984). CO_2 dapat menghambat mikroba pembusuk makanan dan juga mampu menghasilkan bakteri Gram negatif (Hotchkiss dkk., 1999). Ada beberapa produk yang dihasilkan oleh BAL yang dapat dilihat di Gambar 5.



Gambar 5. Produk Fermentasi BAL
(Lindgren dan Dobrogosz, 1990)

Sementara itu, BAL memiliki ketahanan yang berbeda-beda terhadap stres osmotik akibat konsentrasi garam yang tinggi. BAL heterofermentatif lebih tahan terhadap kondisi lingkungan dengan tekanan osmotik tinggi (Tsakalidou dan Papadimitriou, 2011). Ketahanan BAL yang berbeda-beda tersebut akan memengaruhi total asam laktat yang dihasilkan. BAL menghasilkan total asam laktat lebih banyak jika tidak mengalami stres osmotik. Jumlah asam laktat yang dihasilkan akan memengaruhi pH lingkungan (Buckle dkk., 1987). Menurut Muchtadi dan Sugiyono (2013), terjadi perbedaan dominasi jenis BAL pada tiap tahapan fermentasi, BAL yang lebih tahan asam akan mendominasi pada tahap akhir fermentasi.

BAL memiliki peranan penting dalam pengawetan bahan pangan dan melawan bakteri patogen melalui senyawa antimikroba. Secara umum mekanisme kerja dari suatu senyawa antimikroba dapat dilakukan dengan cara mengganggu atau merusak penyusun dinding sel, bereaksi dengan membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas seluler, inaktivasi enzim-enzim esensial, dan destruksi atau inaktivasi fungsi dari materi genetik (Sari dkk., 2013).

Produksi asam laktat tersebut akan menyebabkan terjadinya penurunan pH yang juga menyebabkan munculnya rasa asam pada produk. Asam laktat bersifat antimikrobal terhadap pertumbuhan mikroorganisme yang tidak tahan asam sehingga berpotensi digunakan sebagai pengawet alami makanan (Pato, 2003).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah salah satu mikroorganisme utama dalam saluran pencernaan manusia normal. Populasi BAL di dalam saluran pencernaan manusia dewasa diperkirakan sekitar 10^9 dari 10^{12} CFU/ml total populasi bakteri. Populasi BAL umumnya didominasi oleh *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria*, yang juga merupakan komponen mikroorganisme dominan pada saluran pencernaan bayi (Favier dkk., 2002).

E. Peran Asam Organik sebagai Antimikrobia

Produk fermentasi BAL salah satunya adalah asam organik. Asam organik ini dihasilkan selama proses fermentasi terkait spesies organisme, gabungan kultur dan kondisi pertumbuhan (Lindgren dan Dobrogosz, 1990). Asam organik mampu menurunkan pH dan berfungsi untuk tidak memutus beberapa ikatan molekul sehingga memiliki kemampuan aktivitas mikroba. Lebih lanjut Lindgren dan Dobrogosz (1990), melaporkan bahwa penurunan pH mampu menghasilkan *minimum inhibitory concentration* (MIC), sehingga asam laktat dapat menghambat kerja *Clostridium tyrobutyricum*, *E.coli*, *Enterobacter* sp dan *Propionibacterium freudenreichii*.

Asam organik dalam pangan dapat berfungsi sebagai asidulan atau pengawet, sementara garamnya atau ester dapat menjadi antimikroba yang efektif pada pH yang mendekati netral. Asam laktat adalah produk utama

pada pangan hasil fermentasi. Produksi asam pada pangan hasil fermentasi bergantung pada bakteri asam laktat, terutama jenis *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*. Asam organik dapat berfungsi sebagai asidulan pangan, *flavoring* dan pengawet sehingga akan meningkatkan pengawasan terhadap bakteri patogen dan meningkatkan umur simpan (Roller, 2003).

Mekanisme penghambatan bakteri oleh asam-asam organik berhubungan dengan keseimbangan asam-basa, penambahan proton dan produksi oleh energi sel. Keseimbangan asam-basa pada sel mikroba ditunjukkan dengan pH yang mendekati normal. Interaksi dengan senyawa kimia akan mengganggu keseimbangan asam-basa dan mengakibatkan kerusakan sel. Ketersediaan ion-ion logam akan mengganggu permeabilitas membran, karena membran kurang permeabel terhadap ion dibandingkan dengan molekul yang tidak bermuatan. Perubahan permeabilitas membran akan menghasilkan efek ganda, yaitu mengganggu transpor nutrisi ke dalam sel dan menyebabkan metabolit internal keluar dari sel (Davidson dan Branen, 1993)

F. Perhitungan Cemaran Mikrobial dengan Metode Angka Lempeng Total

Metode kuantitatif digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT). Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan lebih tepatnya ALT

aerob mesofil atau anaerob mesofil menggunakan medium padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (CFU) per ml/gram. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes, dan cara sebar (Badan Pengawasan Obat Dan Makanan, 2008).

Angka lempeng total (ALT) adalah uji mikrobiologi yang digunakan untuk mengetahui jumlah sel hidup atau *colony forming unit* (CFU) yang ada pada makanan khususnya mikrobia mesofilik aerob. Analisis ALT menggunakan medium plate count agar. Fungsi dari medium *plate count agar* adalah sebagai tempat isolasi atau tempat pertumbuhan mikrobia khususnya mikrobia yang bersifat mesofilik aerob (Fardiaz, 1993).

G. *Total Volatile Base* (TVB) sebagai Parameter Mutu dan Kesegaran Ikan

Menurut Cathra (2010), *Total Volatile Base* (TVB) atau disebut juga basa yang mudah menguap terbentuk dalam otot ikan sebagian besar terdiri dari ammonia, trimethyl amine (TMA) dan dimethyl yang kadarnya berbeda-beda antara jenis ikan bahkan dalam satu jenis ikan yang sama. Keadaan dan jumlah kadar TVB tergantung pada mutu kesegaran ikan. Kemunduran mutu ikan ditandai dengan meningkatnya kadar TVB. Trimetil amin adalah senyawa organik dengan rumus $N(CH_3)_3$, senyawa ini tidak berwarna, higroskopis dan mudah terbakar. Amina tersier

memiliki bau kuat amin, rendah konsentrasi dan ammonia seperti bau pada konsentrasi yang lebih tinggi.

Trimetil amin (TMA) sering digunakan sebagai indeks kerusakan ikan laut. Indeks kerusakan untuk ikan air tawar bukan trimetil amin melainkan ammonia karena jumlah Trimetil amin oksida (TMAO) dan TMA dalam daging ikan air tawar sangat kecil, bahkan sering kali ikan tersebut tidak mengandung TMAO dan TMA (Hadiwiyoto, 1993). Menurut Utami dkk., (2013), Total Volatile Base (TVB) mengukur senyawa basa yang menguap karena adanya degradasi protein, peptida dan asam-asam amino oleh aktivitas bakteri. Semua angka TVB mengalami kenaikan selama penyimpanan.

Menurut Sukarsa dkk., (1982) pengaruh konsentrasi garam terhadap nilai TVB cenderung mengecil pada konsentrasi garam yang tinggi. Kesegaran ikan berdasarkan kadar TVB menurut Faber (1965) sebagai berikut.

1. Ikan sangat segar (TVB <10 mgN/100 g)
2. Ikan segar ($10 \leq \text{TVB} \leq 20$ mgN/100 g)
3. Ikan masih layak konsumsi ($20 \leq \text{TVB} \leq 30$ mgN/100 g)
4. Ikan tidak layak konsumsi (>30 mgN/100 g)

H. Hipotesis

1. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap citarasa Fermentasi wadi ikan patin (*Pangasius* sp.)